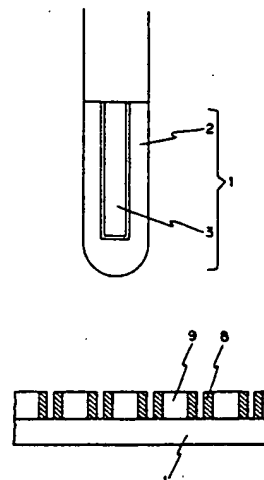


ION SELECTING SEMICONDUCTOR ION SENSOR

(43) 20.6.1987 (19) JP
 60-279464 (22) 10.12.1985
 SHI ELECTRIC CORP (72) KENICHI INATOMI(1)
 G01N27/30

PURPOSE: To eliminate effect of an interfering ion with a higher selectivity for hydrogen ion, by covering a hydrogen ion sensitive FET with an organic thin film containing a hydrogen ion channel.

CONSTITUTION: A hydrogen ion sensitive FET(pHFET) is provided with a gate 1 comprising a source 2 and a drain 3. An F_0 immobilized film comprising F_0 8 of a hydrogen ion channel and a high polymer thin film 9 is provided on the gate 1, wherein the F_0 8 is produced by separating only F_0 portion from F_0F_1 adenosine triphosphate and act as channel only for H^+ . It is fixed on the gate 1 with the film 9. With such an arrangement, cations such as Na^+ and K^+ in a measuring sample is not allowed to pass through an F_0 film, eliminating effect of an interfering ions along with a higher selectivity for hydrogen ions.

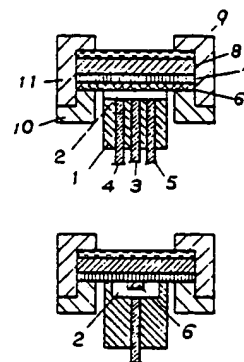


(54) BIOSENSOR

(11) 62-137559 (A) (43) 20.6.1987 (19) JP
 (21) Appl. No. 60-278202 (22) 11.12.1985
 (71) MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD (72) MARIKO KAWAGURI(2)
 (51) Int. Cl. G01N27/30, G01N27/46

PURPOSE: To achieve a measurement accurately in a short time with the quicker permeation and reaction of a sample, by arranging a liquid preserving layer, filter layer, reaction layer and sample added layer on an electrode part.

CONSTITUTION: A electrode section provided with a measuring pole 3, an oppose pole 4 and a reference pole 5 is formed on an insulating substrate 1 and a groove is formed in the top of the electrode section on the substrate 1 as a space section 2. Then, to cover the electrode section, a measuring chip comprising a liquid preserving layer 6, a filter layer 7, a reaction layer 8 and a sample added layer 9 is set on frame bodies 10 and 11. When a blood is dropped on the sensor thus obtained, it spreads evenly in the layer 9 and quickly fed to the layer 8 where oxidation reduction enzyme and an oxidation type pigment to be conjugated therewith are reacted to be fed to the layer 7. At the layer 7, red blood cell and platelet are filtered and by the layer 6, they are guided quickly to the electrode section to detect the reaction value. Thus, a specified component can be measured accurately in a short time.

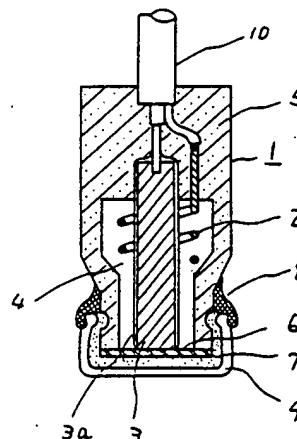


(54) SENSOR BODY

(11) 62-137560 (A) (43) 20.6.1987 (19) JP
 (21) Appl. No. 60-276863 (22) 11.12.1985
 (71) TOSHIBA CORP (72) MASAO KOYAMA
 (51) Int. Cl. G01N27/46, G01N27/30

PURPOSE: To keep electrolytic liquid or the like from permeating into an electrode body, by a method wherein one of two electrode bodies is mainly composed of carbon and a water insoluble substance is added thereto.

CONSTITUTION: An oxygen electrode 1 as base electrode is made up of, for example, an anode 2 made of silver/silver chloride, a cathode 3 comprising a carbon rod mainly composed of carbon and additionally containing water insoluble substance (e.g. fat), an electrolytic liquid 4, a cylinder 5 and oxygen permeating fluorine based high polymer film 6. Then, a sensitive film 7 converting the outside of the film 6 and a semi-permeable film 9 are sealed up with a seal material 8. This facilitates the making of the cathode 3 while inhibiting permeation of an electrolytic liquid or the like into cathode 3 thereby enabling analysis with a high accuracy for long time.



⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-137559

⑬ Int. Cl.

G 01 N 27/30
27/46

識別記号

庁内整理番号

J-7363-2G
A-7363-2G

⑭ 公開 昭和62年(1987)6月20日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 バイオセンサ

⑯ 特 願 昭60-278202

⑰ 出 願 昭60(1985)12月11日

⑱ 発 明 者 河 栗 真 理 子 門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式会社内
⑲ 発 明 者 南 海 史 朗 門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式会社内
⑳ 発 明 者 飯 島 孝 志 門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式会社内
㉑ 出 願 人 松下電器産業株式会社 門真市大字門真1006番地
㉒ 代 理 人 弁理士 中尾 敏男 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

バイオセンサ

2. 特許請求の範囲

(1) 絶縁性の基板に測定極、対極および参照極からなる電極系を設けた電極部の上に、空間部を介して保液層と多孔体膜からなる濾過層および酸化還元酵素と、前記酵素と共役する酸化型色素を含んだ反応層を枠体にはさんで設置し、さらにその上部に親水性の多孔体からなる試料添加層を設けたことを特徴とするバイオセンサ。

(2) 試料添加層がセルローズよりなることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明はバイオセンサに関し、生体試料中の特定成分を検知することが可能であり、医療分野や食品工学などに幅広く応用できるものである。

従来の技術

医療技術の進歩とともに、血液や尿中の特定成

分を測定することにより健康のチェック、病気の状態、治療の効果などがわかるようになった。しかし、従来は病院の臨床検査室で大型の機械や複雑な手法で調べているため時間や費用がかかるという問題があった。そこで、もっと簡易にその場で測定できるセンサが望まれている。その1つの試みとして第2図のような多層式の分析担体が提案されている。透明な支持体12の上に試薬層13、展開層14、防水層15、濾過層16が順に積層した構造になっている。血液サンプルを上部から滴下すると、まず濾過層16により血液中の赤血球、血小板などの固形成分が除去され、防水層15にある小孔から展開層14へ均一に浸透し、試薬層13において反応が進行する。反応終了後透明な支持体12を通して矢印の方向から光をあて、分光分析により基質濃度を測定する方式である。

発明が解決しようとする問題点

この方式は微量の血液を滴下することにより、簡易に測定できるというメリットがある。しかし、

血液の浸透および反応に時間がかかるため、サンプルの乾燥を防ぐ防水層 15 が必要となったり、反応を速めるために高温でインキュベートする必要があり、装置および担体が複雑化するという問題がある。

本発明のバイオセンサは、上記の問題点である装置や担体の複雑化をさけ、簡易な装置および担体で迅速に精度よく基質が測定できることを目的とする。

問題点を解決するための手段

本発明のバイオセンサは上記の目的を達成するため電極部の上に保液層、濾過層、反応層および試料添加層を設けたものである。

作用

このようなセンサに血液を滴下すると試料添加層で均一にひろがり、すみやかに反応層へ供給される。反応層で酸化還元酵素および前記酵素と共役する酸化型色素がすみやかに反応する。次に濾過層において赤血球および血小板が濾過される。さらに、何も担持されていない保液層が濾過され

イゼガーゼ（旭化成工業（株）製）からなる。反応層 8 はバルブの不織布からなり、グルコースオキシダーゼ 200 単位とフェリシアン化カリウム 400 単位をそれぞれリン酸緩衝液（pH 5.6）1 cc に溶かした高濃度の溶液を含浸し、エタノールのような水に対する溶解度の大きい有機溶媒中に浸漬後真空乾燥してグルコースオキシダーゼおよびフェリシアン化カリウムの細かい結晶を高密度に担持している。濾過層 7 は孔径 1 μm のポリカーボネート多孔体膜で、血液中の赤血球などの固形成分を除去する。保液層 6 として、幅 2 mm の帯状のレーヨン紙を用いた。レーヨン紙の両端は枠体に固定されており、電極部の幅 3.4 mm の溝の内部にはまりこむような位置に保持されている。測定チップの濾過層 7 が、電極部の溝以外の部分によって第 1 図の断面 B のように支えられている。上記の試料添加層 9、反応層 8、濾過層 7、保液層 6 を枠体 10、11 を用いて圧着またはエポキシ樹脂等の接着剤により固定している。

試料液添加層 9 に、血液 30 μl を添加し元分

た反応液をすみやかに電極部に誘導し、そこで電極反応により反応量を検知する。このように、短時間で血液サンプルが反応し、濾過されるため、簡易な装置および担体で精度よく基質の測定が可能となった。

実施例

以下バイオセンサの 1 つとして、グルコースセンサを例に具体的に説明する。

酸化還元酵素としてグルコースオキシダーゼを、酸化還元酵素と共役する酸化型色素としてフェリシアン化カリウムを用いた。第 1 図にグルコースセンサの一実施例の模式図を互いに直交した面の断面図 A、B で示す。電極部はポリ塩化ビニル樹脂からなる絶縁性の基板 1 に、空間部 2 として幅 3.4 mm、深さ 0.15 mm の溝を形成し、白金を埋めこんで、測定極 3、対極 4、および参照極 5 からなる電極系を構成した。前記電極系を覆うように枠体 10 および 11 に試料添加層 9、反応層 8、濾過層 7、保液層 6 をはさんだ測定チップを設置する。試料添加層 9 はセルロースの織物であるハ

浸透させた後、参照極 5 を基準に測定極 3 の電圧を 0 ~ +0.1 V の間で鋸歯状に 0.1 V / 秒で変化させた。この場合、白金からなる参照極 5 の電位は試料液に溶解しているフェリシアン化カリウムとフェロシアン化カリウムの濃度比で決定される。添加された血液がハイゼガーゼ 9 により全面にひろがり反応層 8 に供給される。血液中のグルコースが、バルブの不織布 8 に担持されているグルコースオキシダーゼにより酸化される際、酵素-色素共役反応によりフェリシアン化カリウムが還元され、フェロシアン化カリウムが生成する。続いて、反応した血液がポリカーボネート多孔体膜 7 を通過する際、赤血球などの大きな固形成分が濾過される。血液のような高粘度でかつ微量のサンプルを濾過させるのはむずかしいが、下にレーヨン紙 6 のような親水性の薄膜を設置することにより、すみやかに濾過できる。さらに、濾過された反応液は、帯状のレーヨン紙を均一にひろがり、その下の電極部に供給される。反応液中のフェロシアン化カリウムを測定極 3 の電圧を掃引するこ

とにより酸化し、その時流れる酸化電流を測定する。この酸化電流は色素の変化量に比例し、色素が十分に存在すれば色素の変化量は基質濃度に対応するため、グルコースの濃度が検知できる。このグルコースセンサを用いると、400mg/dl という高濃度のグルコースが2分という短時間で測定できた。これは、従来例のように濾過して反応を行なわせるのではなく、まず、反応を行なわせる構成であり、高濃度の基質に充分対応できる酵素と色素がとけやすい状態で担持されているため短時間で反応が終了したと考えられる。さらに、反応層8の上に血液と親和性の高いハイゼガーゼ9を設置しているため、高粘度の血液でもすみやかに全面に広がり反応層8に供給されるため、わずか15μl という微量な血液でも安定した応答電流が得られるようになった。ハイゼガーゼ9のない場合は、血液が高粘度の場合反応層8上でのひろがりが悪く、反応液が電極部に達するのに1分近く必要とするものがあるが、ハイゼガーゼ9を上設置すると添加した血液は1秒以内に全面

にひろがって反応層へ供給され、約30秒でほとんど血液サンプルの反応液が電極部に達した。反応層8に界面活性剤を担持すると、血液のひろがり、浸透は改善されるが、界面活性剤の濃度によっては溶血がおこるため測定誤差が生じることがある。しかし、ハイゼガーゼ9を用いることにより、反応層8に界面活性剤を担持する必要がなくなり、溶血はみられず反応層中を血液が均一に浸透するため、再現性の良い応答が得られた。さらに、血液の添加の際、指に針をさして採血し直接測定する場合、反応層8が直接指に触れると湯口に酵素や色素が溶解して汚染の危険性があるが、ハイゼガーゼ9を設置することにより安全に血液の添加が可能となった。

試料添加層9として、実施例ではハイゼガーゼを用いた。この多孔体膜は、脱脂した綿の長繊維からなる不織布であり、高純度のセルロースのため、非常に血液に対して親和性が高い。また、長繊維を加工した不織布のため、添加した血液は直径5mmの面積であれば、1秒以内という早さで全

面に広がるため、高粘度の血液でも微量のサンプルを有効に反応層へ供給することができた。さらに、多孔度の大きい不織布のため添加した血液が試料添加層9で保持され反応層への供給が妨害されることもなかった。ハイゼガーゼの他にも、綿から作られた不織布、パルプの不織布なども使用できた。

実施例では、枠体10、11に反応層8などとともに試料添加層9を組み込んだが、保液層6、濾過層7、反応層8を枠体に組み込んだのち、試料保液層9を落としこんで設置してもよい。

本発明のバイオセンサは、試料液以外の希釈液などは必要としないため、血液の添加量を15~100μlに変化させたところ、同一の血液では添加量に関係なく一定の値を示した。このため、添加量を正確にする必要がなく、微量の血液を添加するだけで簡易に測定が可能となった。さらに、高濃度の酵素および酸化型色素を用いることにより2分という短時間で反応が終了しているため、高温でインキュベートするための装置や蒸発を防

ぐ防水層が不要で、簡易な装置および担体で精度よく測定できた。

色素としては、上記実施例に用いたフェリシアニ化カリウムが安定に反応するので適しているが、p-ベンゾキノンを使えば反応速度が早いので高速化に適している。又、2,6-ジクロロフェノールインドフェノール、メチレンブルー、フェナジンメトサルフェート、β-ナフトキノシ4-スルホン酸カリウムなども使用できる。

なお、上記実施例におけるセンサはグルコースに限らず、アルコールセンサやコレステロールセンサなど、酸化還元酵素の関与する系に用いることができる。酸化還元酵素としてはグルコースオキシダーゼを用いたが、他の酵素、たとえばアルコールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ等も用いられる。なお酵素は架橋剤等で固定化しても用いることができた。

発明の効果

このように本発明のバイオセンサによれば、直

微量なサンプルを滴下するだけで、特定成分を短時間に精度よく測定することができた。

4、図面の簡単な説明

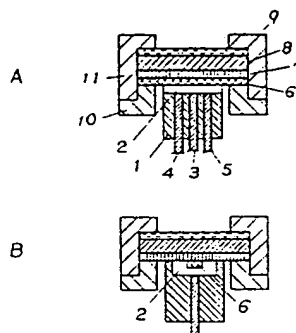
第1図A、Bは本発明の一実施例のグルコースセンサを直交した面で破断した断面模式図、第2図は従来のバイオセンサの模式図である。

1……基板、2……溝、3……測定極、4……対極、5……参照極、6……保液層、7……濾過層、8……反応層、9……試料添加層、10、11……枠体、12……支持体、13……試薬層、14……展開層、15……濾過層、16……防水層。

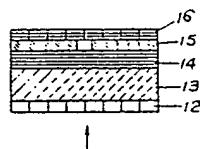
代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

第 1 図
2……溝
3……測定極
4……対極
5……参照極
6……保液層
7……濾過層
8……反応層
9……試料添加層
10、11……枠体

第 1 図



第 2 図



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.